

OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVE AND ITS PREPARATION

Publication number: JP59093099

Publication date: 1984-05-29

Inventor: MIYOSHI KENICHI; FUWA TOORU

Applicant: WAKUNAGA SEIYAKU KK

Classification:

- international: C07H21/04; C07H21/02; C07H21/00; (IPC1-7): C07H21/02; C07H21/04

- european:

Application number: JP19830204305 19831031

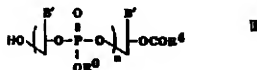
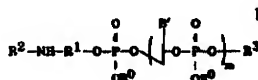
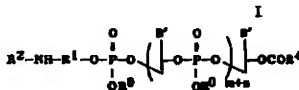
Priority number(s): JP19830204305 19831031

Report a data error here

Abstract of JP59093099

NEW MATERIAL: The compound of formula I (m and n are 0 or natural number; R<0> is protecting group of phosphate group; R<1> is bivalent hydrocarbon residue; R<2> is amino-protecting group; COR<4> is protecting group of 3'-terminal hydroxyl group of nucleotide; B' is base constituting nucleotide, etc.).

USE: Intermediate for preparation of resin for affinity chromatography, a non-radioactive affinity probe, etc. **PROCESS:** The compound of formula I can be prepared e.g. by reacting the compound of formula II (R<3> is protecting group of the 3'-terminal hydroxyl group of nucleotide) with the compound of formula III in the presence of a condensation agent (e.g. tosyl chloride), thereby forming a phosphate bond by the dehydrative condensation of the 3'-terminal phosphate group of the compound of formula II with the 5'-terminal hydroxyl group of the compound of formula III.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

⑩ 日本国特許庁 (JP)
 ⑩ 公開特許公報 (A)

⑩ 特許出願公開
 昭59-93099

⑩ Int. Cl.³
 C 07 H 21/02
 21/04

識別記号

庁内整理番号
 7252-4C
 7252-4C

⑩ 公開 昭和59年(1984)5月29日

発明の数 1
 審査請求 未請求

(全 10 頁)

⑨ オリゴヌクレオチド誘導体およびその製造法

④ 特 願 昭58-204305
 ④ 出 願 昭57(1982)8月9日
 ④ 特 願 昭57-138136の分割
 ④ 発 明 者 三好健一
 広島県高田郡吉田町吉田1356-

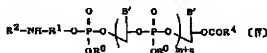
1
 ④ 発 明 者 不破亨
 広島市中区小町6-17-602
 ④ 出 願 人 湧水製薬株式会社
 大阪市福島区福島三丁目1番39号
 ④ 代 理 人 弁理士 猪股清 外 2 名

明 細 書

1. 発明の名称 オリゴヌクレオチド誘導体およびその製造法

2. 特許請求の範囲

1. 下式 (IV) で示されるものであることを特徴とする、オリゴヌクレオチド誘導体。



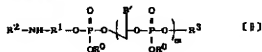
(ただし、mおよびnはそれぞれ0または任意の自然数であり、R⁰はリン酸基の保護基であり、R¹は2個の塩基または分岐鎖の炭化水素残基であり、R²はアミノ基の保護基であり、COR⁴はヌクレオチドの3'-末端糖基の保護基であり、Bはヌクレオチドを形成する塩基であつて必要に応じて保護されたものである (Bが置換個存在するとはそれらは同一でも異なるものでよい)。)

- 塩基Bがそれぞれ保護されたアデニン、グアニンおよびチミンならびにタミン (保護不要) からなる群より選ばれたものである、特許請求の範囲第1項記載のオリゴヌクレオチド誘導体。
- R⁰がオルトクロロフェニル基またはパラクロロフェニル基である、特許請求の範囲第1項記載のオリゴヌクレオチド誘導体。
- R¹が炭数2〜20の直鎖または分岐鎖のアルキレン基である、特許請求の範囲第1〜3項のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド誘導体。
- R²がオルトニトロフェニル基またはトリフルオロメチル基である、特許請求の範囲第1〜4項のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド誘導体。
- COR⁴基のR⁴が低級アルキル基またはアリール基である、特許請求の範囲第1〜5項のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド誘導体。
- COR⁴基のR⁴がスチレンを介した炭素であつて、ポリスチレン誘導体、シリカゲル誘導体

たはポリアクリルアミド誘導体である、特許請求の範囲第1～5項のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド誘導体。

8. n が0または1までの自然数、 n が0または10までの自然数である、特許請求の範囲第1～7項のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド誘導体。

9. 下式〔I〕で示される化合物の R^3 を除去したものと、下式〔II〕で示される化合物とを融合させて下式〔IV〕の化合物を得ることを特徴とする、下式〔IV〕で示されるオリゴヌクレオチド誘導体の製造法。



2. 発明の詳細を説明

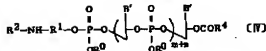
発明の背景

技術分野

本発明は、一般に、新規オリゴヌクレオチド誘導体に関する。さらに具体的には、本発明は、ヌクレオチドの塩基以外の部分にスパーサーを介して保護されたアミノ基を導入してなるオリゴヌクレオチド誘導体に関する。本発明は、また、このようなヌクレオチド誘導体の製造法にも関する。

先行技術

近年、核酸の化学合成は新しい保護基の導入あるいはトリエステル法、ホスファイト法等の新しい融合法の発明により飛躍的に発展している。また、遺伝子工学の急速な進歩とあいまって、核酸の化学合成がこの分野でも重要な意義をもつようになつてきた。例えば、人工遺伝子を合成し、遺伝子置換操作を利用して有用物質の生産が行なわれている(ヒト成長ホルモン: *Nature*, **281**, 544 (1979)、白血球由来インターフェロン: *Nature*, **287**, 411 (1980)。また、ハイブリ



〔ただし、 m および n はそれぞれ0または任意の自然数であり、 R^0 はリン酸基の保護基であり、 R^1 は2位の炭素または分枝鎖の炭化水素残基であり、 R^2 はアミノ基の保護基であり、 R^3 はヌクレオチドの3'-末端リン酸基の保護基であり、 R^4 はヌクレオチドの3'-末端水酸基の保護基であり、 R^5 はヌクレオチドを形成する塩基であつて、必要に応じて保護されたものである〔 R^5 が保護基が存在するときは、それらは同一でも異なつてもよい〕。〕

10. 化合物〔I〕と〔II〕との融合を融合剤の作用下で行なう、特許請求の範囲第9項記載の方法。
11. 融合剤がトシルクロリド、メシチレンスルホニルクロリド、メシチレンスルホニルトリブチリドおよびメシチレンスルホニルトリブチリドのいずれかである、特許請求の範囲第10項記載の方法。

ド法のためのプローブ (*Nucl. Acids Res.*,

9, 879 (1981))としてや、mRNAあるいは一本鎖DNAから逆転写酵素あるいはDNAポリメラーゼによつて二本鎖DNAを合成する際に必要で隣接DNAに相補的なDNA断片(プライマー)として利用する例(*Nucl. Acids Res.*, **8**, 4057 (1980))もある。さらに、核酸を融合させた複体を用いるアフィニティクロマトグラフィー用樹脂として、オリゴ(dT)-セルロースまたはオリゴ(U)-アガロースカラムを使つて3'-末端にポリ(A)を含むRNAを単離するという応用例(*J. Biochem.*, **81**, 941 (1977))もある。

このように、核酸の有機化学的合成手続は、遺伝子工学、分子生物学等の分野の研究に多大な寄与をもたらすものである。

本発明者は、現在まで、オリゴヌクレオチドの有機化学的合成分野で固相法を有力な合成手段として種々のオリゴヌクレオチドの合成を行なつてその応用を検討してきたが、特にアフィニティクロマトグラフィー用樹脂あるいは非放射性アフ

イニチアトープ等を調製すべく調整能力を成れた結果、これらの製造の際に有用な中間となるオリゴステレオナドを見出した。

現在まで調製あるいは市販されているアフィニティクロマトグラフィー用樹脂 (Arch. Biochem. Biophys., 168, 581 (1974), J. Biochem., 83, 788 (1978), 特開昭52-25795号、同53-101396号、同53-133283号および同55-36277号各公報) や非放射線用アフィニティトープ (Proc. Natl. Sci. USA, 78, 6633-6637 (1981)) に用いられているオリゴステレオナド誘導体の製造法は、一般に會球にわたるものであるという共通の懸念をかかえていて応用範囲が限定されているのが現状である。

発明の概要

要旨

本発明は上記の点に解決を与えることを目的とし、特定のオリゴデオキシリボステレオナドのステレオナドの塩基以外の特定部位にアミノ基を導入してなるオリゴステレオナド誘導体によつて

〔ただし、 m および n はそれぞれ0または任意の自然数であり、 R^0 はリン酸基の保護基であり、 R^1 は2価の炭素または分岐鎖の炭化水素残基であり、 R^2 はアミノ基の保護基であり、 R^3 はステレオナドの3'-末端リン酸基の保護基であり、 R^4 はステレオナドを構成する塩基であつて、必要に応じて保護されたものである(以下「必要保護基」といふ)、それらは同一でも異なつてもよい。〕

効果

本発明者らの合成したオリゴデオキシリボステレオナドは、その合成の際の懸念を回避し得るものであつて、以下のような長所をもつ。

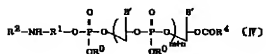
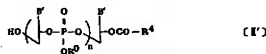
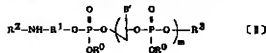
(1) オリゴステレオナド中に存在する他の官能基(水酸基、リン酸基、塩基部分のアミノ基等)よりも反応性が高いアミノ基を3'-末端塩基上に有するので、この部分で選択的に他の化合物の官能基(たとえば、 $-COOH$ 、カルボン酸活性エステル、プロモシアンで活性化したOH基、その他)と結合させることができる。

(2) 上記アフィニティクロマトグラフィー用樹脂

の目的を達成しようというものである。

従つて、本発明によるオリゴステレオナド誘導体は、下式〔I〕で示されるものであること、を特徴とするものである。

また、本発明による下式〔I〕で示されるオリゴステレオナド誘導体の製造法は、下式〔II〕で示される化合物の R^3 を除去したものと、下式〔II']で示される化合物とを結合させて下式〔I〕の化合物を得ること、を特徴とするものである。



や非放射線用アフィニティトープ等合成の際有用な中間体となる。

(3) 合成が容易で大量合成が可能である(特に本発明者らが確立した固相合成法を採用すればその効果はさらに大きい)。

発明の具体的な説明

オリゴステレオナド誘導体〔I〕

本発明によるオリゴステレオナド誘導体は、前記の式〔I〕で示されるものである。式中 $\begin{array}{c} R^3 \\ | \\ \text{---} \end{array}$ は、デオキシリボステレオナドの3'-および3'-水酸基を除いたデオキシリボステレオナド残基を示すに用いられているものであつて、具体的には下記の構造のものである。



置換基 R^3 は、ステレオナドを構成する塩基であつて必要に応じて保護したもの、を示す。本発明で「必要に応じて保護された」というときの「必

要に応じて」ということは、当該アロキシルポスタクロオド誘導体を合成しあるいはこれを他の反応に供する場合にこの保護をこれらの反応の際に他の試薬からの攻撃から保護する必要がある場合には、ということを意味する。どのような場合にそのように保護が必要であるかあるいはどのような保護基が使用されるかに關しては、該合成に關する文献または成書または試験したものを参照することができる。B'の具体例は、通常はそれだけアシル化したアジニン、シトシンまたはグアニンあるいはチミン（保護不要）から剪断されたものである。化合物〔N〕中にBが複数存在するとき、それらは同一でも異なってもよい。

mおよびnはそれぞれ0または自然数を示す。本発明のオリゴヌクレオチド誘導体の重合度がm+nで表わされているのは、本発明の好ましい製造法で重合度がそれぞれmまたはnのフラクシオンを混合させていることによるものである（詳細後記）。その場合、mは実用的には0〜6、特に1〜4、nは実用的には0〜40、特に0〜20、で

る、またはメチル置換フェニル）または固相合成法の適用に用いられる適当なスベーターをもつ担体（ポリスチレン誘導体a）、シリカゲル誘導体、ポリアリルアミド誘導体b等）がある。

a) Chem. Rev. 77, 183 (1977)

Forauehr, Chem. Org. Naturstoffe, 32, 297 (1975)

b) J. Am. Chem. Soc. 98, 8514 (1976)

Nucl. Acids Res. 4, 1135 (1977)

" " " 4, 4391 (1977)

" " " 5, 1265 (1979)

" " " 6, 5491 (1980)

Tetrahedron Letters, 1977, 1819

" " " 1979, 3635

化合物〔N〕の合成

一般の説明

化合物〔N〕、すなわち本発明によるオリゴヌクレオチド誘導体は、合目的な任意の方法によつて合成することができる。

一つの好ましい方法は、前記の式〔I〕で示され

る。

基R⁰は、リン酸基を保護する保護基である。

これは、通常は置換されたフェニル基であつて、~~置換されたR⁰は第一でなくてもよい。~~オルトまたはパラクロロフェニル基が好ましい。

基R¹は、化合物〔N〕の核糖部分とアミノ基部分とを連結する二価の直鎖または分枝鎖の炭化水素鎖であり、特に炭素数2〜20程度のアルキレン基である。

基R²は、5'-末端炭素上のアミノ基の保護基である。アミノ基の保護基は種々あるが、本発明においては、化合物〔N〕の製造工程および、さらにその応用から考えれば、各保護基の除去の簡便でありかつヌクレオチドの部分の安定なまで除去できるものが好ましい。以上の観点からすれば、R²としてはオルトニトロフェニルメシルフェニル基（NPB）またはトリフルオロアセチル基（TFA）等があり、なかでもトリフルオロアセチル基が好ましい。

基COR⁴は通常のオリゴヌクレオチド合成の際に用いられる3'-末端水酸基の保護基である。基R⁴は低級アルキル基、アリール基（特にフェニル）

る化合物のR³を除去したものと、式〔F〕で示される化合物とを結合させることからなるものである。

一方、化合物〔I〕、〔F〕も合目的な任意の方法、すなわち通常の核糖合成法で合成することができる。本発明者らの固相合成法に従うのが好ましい（詳細後記）。

図1図は、この好ましい合成法の一例を示すフローチャートである。フローチャート中の記号は下記の意味をもつ（その意味は以下に詳述は、前記および後記した通りである。）

R⁰ リン酸基を保護する保護基であつて、通常オルトクロロフェニル基が用いられる。

R¹ 二価の直鎖または分枝鎖の炭化水素鎖である。

R² アミノ基の保護基であつて、通常トリフルオロアセチル基が用いられる。

R³ 他のすべての保護基が安定な条件下で容易に脱離されて、リン酸ジエステルを与えることができる置換基であつて、通常シアノエチル基が用

いられる。

COR⁴ 通常のオリゴヌクレオチド合成に用いられる5'-末端水酸化の保護基である。

R⁵ 通常のオリゴヌクレオチド合成の際に用いられる5'-末端水酸化の保護基であつて、通常ジメトキシトリアル基である。

n 0または任意の自然数。

m 0または任意の自然数。

B⁶ 保護された塩基を示すが、通常はN⁶-ベンジルアデニン、D⁶-イソブチリルグアニン、N⁶-ベンゾイルシトシンおよびチミン(すなわち、保護不変)より選択される。

化合物[E]の合成

化合物[E]の合成は、オリゴヌクレオチドの合成および生成ヌクレオチドの5'-水酸化基延長上での一級アミノ基の導入からなる方法で行なうことができる。その一実施形態は、化合物[D]の5'-水酸化基をリン酸化し、次いで化合物[F]を結合させることからなる(第1図参照)。リン酸化方法としては2価のリン酸化試薬を用いるが、試薬

Nucleic Acids Research **8**, 5491(1980)
Nucleic Acids Research **8**, 5507(1980)
Nucleic Acids Research Symposium Series **7**, 281(1980)

従つて、化合物[E]の合成の一実施形態は、固相合成法に従つて化合物[E]を合成し、この化合物の5'-末端基(R⁵)を水酸化して得ることからなるものである(詳細は後記実験例参照のこと)。

基R⁵はオリゴヌクレオチドを合成する際に通常用いられる保護基であつて、塩基または分岐鎖のトリアル基が用いられる。この場合、基R⁵の除去は、ベンゼンスルホン酸、酢酸または臭化亜鉛の1.0Nイソプロパノール-塩化メチレン溶液中で行なう方法がある。また、通常基R⁵としてはジメトキシトリアルを用いる。

なお、化合物[D]および[E]等のオリゴヌクレオチドの合成法は既に公知のものがあるが、従来は塩基およびその導入に用いる試薬ならびに結合の場について上記以外の詳細は、従来化学合成に関する成書や論文、たとえば、「ヌクレ

オチド・ヌクレオチドの合成」(丸善1977年)、「核酸有機化学」(化学同人1979年)、「核酸」(朝倉書店1979年)、Tetrahedron, **34**, 3143(1978)、有機合成化学, **34**, 723(1978)および化学の領域, **33**, 566(1978)等を参照することができる。

とる。化合物[D]は、通常既知の核酸合成法に従つて合成できるが、本発明者らの確立した固相合成法に従うのが好ましい(後記文献参照)。

また、化合物[F]は、アミノアルケンアルコール(NH₂-R¹-OH)のアミノ基をR²で保護することにより得ることができる。なお、アミノアルケンアルコールはC₂~C₁₂のものが市販されてゐて、入手が容易である。

化合物[F]の合成

化合物[F]の合成は、既知のオリゴヌクレオチド合成法に従つても、本発明者らの固相合成法に従つて行なつてもよい。一般に、オリゴヌクレオチド合成法としては、トリエステル法、ホスファイト法およびそれぞれの適当な組み合わせがあるが、本発明者らの開発した固相合成法(下記文献参照)が好ましい。

Tetrahedron Letters **1979**, 3655(1979)
Nucleic Acids Research **8**, 5473(1980)

オリゴ・ヌクレオチドの合成」(丸善1977年)、「核酸有機化学」(化学同人1979年)、「核酸」(朝倉書店1979年)、Tetrahedron, **34**, 3143(1978)、有機合成化学, **34**, 723(1978)および化学の領域, **33**, 566(1978)等を参照することができる。

化合物[G]の合成

オリゴヌクレオチド誘導体(化合物[G])は、上記の化合物[E]と化合物[F]とを結合させることにより得ることができる。

両者の結合は、結合剤の存在下において化合物[E]の5'-末端水酸化と化合物[F]の5'-末端リン酸基との脱水縮合によるリン酸結合を形成する方法によつて行なうことができる。

この場合の結合剤としては、トシムクロリド、メシレンスルホン、トシムクロリド、メシレンスルホン、トシムクロリドおよびメシレンスルホン、ニトロトリアゾリド等があるがメシレンスルホン、ニトロトリアゾリドが好ましい。詳細な反応条件等は後記実験例を参照されたい。

実 例

フローチャート

第2図のフローチャートに従って、本発明の化合物(構造的化合物④)を製造した。

第2図で、記号は次の意味を持つ。

B' ベンゾイル化アデニン

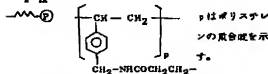
DMTF ジメトキシトリフルアセナル

CE シアノエチル

TFA トリフルオロアセナル

m 2

n 12



化合物(II)(第2図の④)の合成

実験例1

6-アミノヘキサノール1.17g (10mmol)をジオキサン(15ml)に溶解し、トリフルオロアセナルナオエナル1.80ml (14.4mmol)を加え、室温

で、クロロホルム層を濃硫酸、シリカゲルカラムで得る(抽出液として1~4分のメタノール含有クロロホルムを使用)し、目的物を含む抽出液を濃硫酸、この溶液をベンチン中に滴下して、粉末状の化合物(II)を得る。

一方、ジメトキシトリフルアセナル/樹脂(II) (ここで樹脂は固体に過ぎないが、樹脂に担持された目的化合物は外観的には樹脂そのものと変わらないので樹脂に担持された当該化合物を以下において単に樹脂と呼ぶことにする) 300mg (0.33mmol)をイソプロパノール-塩化メチレン(16:85)(v/v)溶液10mlで3回洗浄後、臭化亜鉛の1.0Mのイソプロパノール-塩化メチレン溶液8mlで5分間ずつ4回反応させて樹脂(II)の脱トリフルアセナル(II)を得る。

樹脂(II)をイソプロパノール-塩化メチレン溶液10mlで3回洗浄し、これにジメタレオチド(II) 150mg (0.1mmol)のピリジン溶液を加え、共沸させてこの溶液系を無水とし、メソチレンスルホニルトリフルアセナル150mg (0.5mmol)と

で一夜反応を行なう。反応終了後、この溶液を濃硫酸、濃硫酸をエーテルに溶解し、水で3回抽出を行なう。エーテル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃硫酸を行なう。濃硫酸をエーテルに加えて溶解した後、ベンチンを加えて結晶化させることにより、粉末状の化合物(II) (トリフルオロアセナル-6-アミノヘキサノール)を得る。

次に、既知の方法で合成した5'-ヒドロキシ-ジメタレオチド(II) 800mg (0.71mmol)をピリジン共沸により無水にし、これにオルトクロロフェニルホルムジトリフルアセナル(1.0mmol)のジオキサン(6.0ml)溶液を加えて2時間反応させ、減圧で化合物(II) 300mg (1.4mmol)および1-メチル-イミダゾール115mg (1.4mmol)を加えてさらに2時間反応させる。反応の終了を確認後、ピリジン-水を加えて過剰のトリフルアセナルを分解し、溶液を蒸発する。残液をクロロホルムに溶解した後、水、0.5Mリン酸二水素ナトリウム水溶液、飽和炭酸水素ナトリウムおよび5%塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾

無水ピリジン2mlとを添加して90分間反応(融合)させる。反応後、ピリジン10mlで3回洗浄し、乾燥後(約10mg)のジメタレオチドピリジンを含む無水溶液-ピリジン(1:9)(v/v)溶液10mlを加え10分間反応させて未反応5'-水酸基をアセチル化して保護し、これをピリジンで洗浄して化合物(II)を得る。このような融合反応操作を5回くり返して、化合物(II) (n=12)を得る。

次に、化合物(II) (n=12) 115mg (3.45mmol)を樹脂(II)と阿糖の方法で脱トリフルアセナル化合物(II)に、化合物(II) 60mg (0.04mmol)をトリエタムリン-ピリジン-水(1:3:1)(v/v)溶液3mlで処理(脱アセチル化)した化合物(II)を加え、無水にしたのち、メソチレンスルホニルトリフルアセナル50mg (0.2mmol)およびピリジン1mlを加えて90分間反応(融合)させ、反応終了後、樹脂をピリジンおよびメタノールで洗浄し、乾燥して、完全に保護されたオリゴヌクレオチド(II)を得る。

なお、化合物(II)の精製を高速度クロマト

ラフィーで行なった。そのために保護基の除去を以下の條件で行なった。すなわち、化合物(3) 15 mg を 0.5 M ナトリウムメタニール-ピリジン-2-カルボアルデヒドのジオキサン-水 (9:1 (v/v)) 溶液 200 ml を加え、反応管中、窒素で24時間反応させる。反応後、メタノール (2.5 ml) を加えて密閉し、60℃で一晩反応させる。反応終了後、戸開し、戸を真空後、水に溶解してからエーテルで抽出を行なう。水層を真空後セファダックス R-50 (41.5×120 cm、抽出量は 0.05 M の塩化トリエチルアンモニウム緩衝液 pH 7.5) で順次精製して、化合物(4) からすべて保護基を除去した。このときの化合物のセファダックスの層出パターンおよび、高速液体クロマトグラフィー (H-Bondapak C18) で純度を検定した際の層出パターンを、それぞれ第3図および第4図に示した。

同様の方法で式(II)で示される化合物を合成し、その化合物の純度も同様の方法で行なった。なお、実施例2および4についてのセファダックスと高

速液体クロマトグラフィーの結果を、それぞれ第5～6図および第7～8図に示した。これらの結果から、化合物の合成が確認された。

また、上記実施例1～7の製造の際の B' , m , n , R^1 , R^2 および塩基配列を第1表に示した。第1表中、「化合物」とは、第2表中の化合物を示す。

第 1 表

化合物 実施例	③		①		⑤	④		⑥	
	B'	m	R ¹	R ²		塩基配列	n	塩基配列 (B') ⁿ B'	m+n
1	A	2	-C ₆ H ₁₂ -TFA		AA	12	AAAAAAAAAAAAAAAA	14	AAAAAAAAAAAAAAAA
2	T	2			TT	12	TTTTTTTTTTTTTT	14	TTTTTTTTTTTTTT
3	A	2			AA	9	AAAAAAAAAA	11	AAAAAAAAAAAA
4	T	1			TT	11	GGGAAGCTTCCC	13	TTCGGAAGCTTCCC
5	T	2			TT	12	TTTTTTTTTTTTTT	14	TTTTTTTTTTTTTT
6	G	2			GG	14	GAAAGCTTTCACGTAA	16	GGGAAGCTTTCACGTAA
7	G	2			GG	14	GTCGACTAACGCACT	16	G ¹ GTCGACTAACGCACT

備 *1 化合物④を合成する際にKは用いられなかったが、純度も (R¹, R²) の組み合わせが下記である化合物①をも合成した。[] は収率を示す。
 (-C₂H₄-NFB) (79%)
 (-C₆H₁₂-NFB) (72%)
 (-C₆H₁₂-TFA) (58%)

考 *2 塩基配列は、A、G、C と示してあるが、実際はアシル化して保護したものである。すなわち
 A = A^B = N⁶-ベンゾイルアデニン
 C = C^B = N⁶-ベンゾイルシトシン
 G = G^B = N⁶-イソブチルチミン
 なお T (チミン) は保護不要である

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の化合物を合成する方法の一例を示すフローチャートである。

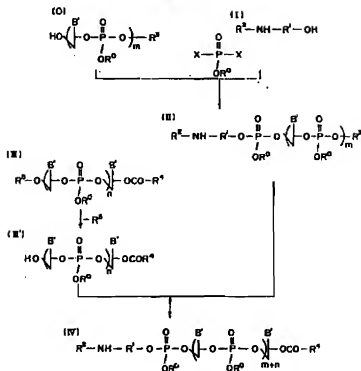
第 2 図は、実験例で示した本化合物のフローチャートである。

第 3、5 および 7 図は化合物〔B〕（それぞれ実験例 - 1、2 および 4）の保護基をすべて除去したものをセファダックス G - 50 によるカラムクロマトグラフィーにかけたときの層出パターンである。

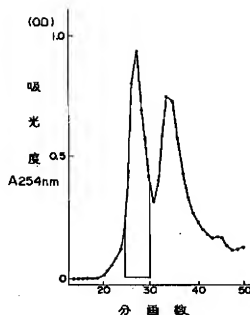
第 4、6 および 8 図は化合物〔B〕（実験例 - 1、2 および 4）の保護基をすべて除去したものの高速液体クロマトグラフィーの層出パターンである。

出願人代理人 関 敦 尚

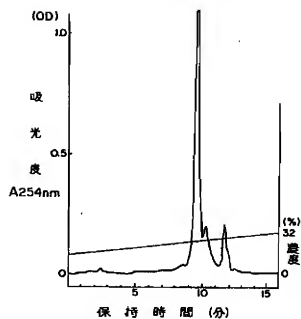
第 1 図



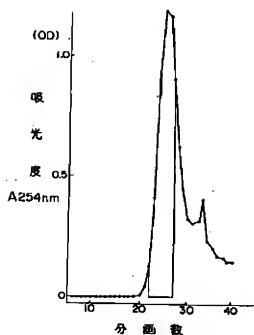
第5図



第6図



第7図



第8図

